

**Entwicklung eines In-Vitro Modells
zum Studium der hyperakuten xenogenen
Abstoßungsreaktion und die Rolle präformierter
komplementbindender Antikörper
in den Spezieskombinationen
Schwein – Hund und Schwein – Mensch**

Andreas Wolff

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0091

Aus der Herzchirurgischen Klinik der Universität München

Vorstand: Prof. Dr.med. W. Klinger

Entwicklung eines In-Vitro Modells zum Studium der hyperakuten
xenogenen Abstoßungsreaktion und die Rolle präformierter
komplementbindender Antikörper in den Spezieskombinationen
Schwein - Hund und Schwein - Mensch

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Andreas Wolff
aus
München

1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. F. Sebening

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. W. Kliner

Dekan: Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:



Oberstudienrat Joseph Schmidlein
gewidmet

ÜBERSICHT

	Seite
I	Einleitung
	1
	Xenogene Organtransplantation
II	Methodik
	5
	A: Das Material
	5
	B: Der Perfusionskreislauf
	6
	C: Gemessene Parameter
	9
	1: Überwachung der Herzfunktion
	9
	2: Das Blutbild
	9
	3: Titerbestimmungen
	9
	4: Histologische Untersuchungen
	12
	5: Immunfluoreszenz
	12
	6: Einteilung in die Versuchsgruppen
	12
III	Ergebnisse
	14
	1: Überlebenszeiten in den Versuchsgruppen
	14
	2: Die Organdurchblutung
	17
	3: Herzgewichte
	19
	4: Serologische Aktivität
	23
	5: Makroskopisch und histologisch feststellbare Veränderungen an den Herzen
	23
	6: Die Leuko- und Thrombozytenzahlen der einzelnen Perfusate
	25
IV.	Diskussion
	30
	A: Methodik
	30
	1: Das isolierte Herzpräparat
	30
	2: Das Perfusat
	31
	3: Serologie
	32

	Seite
B: Ergebnisse	33
1: Der Mechanismus der HXAR (Hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion)	33
2: Funktionsverlust, Durchblutung und Gewichtszunahme	34
3: Histologie und Blutmorphologie	36
4: Präformierte Antikörper und HXAR (Hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion)	37
V Zusammenfassung	39
VI Literaturverzeichnis	41
VII Lebenslauf	51

I Einleitung

Die xenogene Organtransplantation steht am Anfang der klinischen Transplantationsära.

1910 wurde von Unger die Übertragung beider Nieren eines Schweinsaffen auf ein 21 jähriges Mädchen vorgenommen. Die Patientin starb 32 Stunden nach dem Eingriff. Die Nieren hatten keinen Urin produziert (69).

Schönstadt bildete 1913 eine Anastomose zwischen den Gefäßen einer Affenniere und den Cubitalgefäßen eines mit Quecksilber vergifteten Patienten. Der Patient verstarb wenige Stunden später (57).

Neuhof behandelte 1923 einen ähnlichen Fall, indem er eine Lammnieren an die Femoralgefäße eines Patienten anschloß. Über 6 Tage bestand eine leichte Urinproduktion. Am 9. Tag verstarb der Patient an einer Lungenentzündung (48).

Die Resultate dieser Organtransplantationen waren also durchwegs entmutigend.

Zu dieser Zeit - 1923 - wurde von Williamson (72) der endgültige Beweis erbracht, daß sich Allo- und Autotransplantate nach verschiedenen Gesetzmäßigkeiten verhalten.

Dasselbe hatten schon 10 Jahre früher Carell (2), Schöne (56) und Underwood (68) vermutet.

Loeb (32) veröffentlichte 1918 als Ergebnis seiner experimentellen Forschung, daß das Ausmaß der Abstoßung allogenen Gewebes im umgekehrten Verhältnis zu dem Grad der Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger steht.

Die immunologische Natur dieses Abstoßungsprozesses wurde 1942 von Medawar und Gibson (36) experimentell bewiesen und 1953 von Simonsen (60) erneut bestätigt.

Nach diesen Erkenntnissen glaubte man, klinische Xenotransplantationen nicht mehr verantworten zu können.

Aber auch auf dem Gebiet der klinischen Allotransplantation wurden bis auf wenige Ausnahmen bis zu Beginn der 50-iger Jahre keine weiteren Versuche unternommen.

1936 transplantierte Voronoy (70) eine Menschenniere.

Der Patient, der an einer Quecksilbervergiftung litt, starb 2 Tage

später an den Folgen eines Transfusionszwischenfalls

Ein weiterer, ebenso erfolgloser Versuch wurde 1945 von Landsteiner unternommen (29).

Durch die Entwicklung der künstlichen Niere, die den temporären Ersatz der insuffizienten Nieren ermöglichte, wurde der Langzeiterersatz der insuffizienten Nierenfunktion ein immer dringlicheres Problem.

Deshalb wurden hauptsächlich in Paris und Boston zwischen 1950 und 55 erneut Bemühungen unternommen, die klinische Nierenallotransplantation zum Erfolg zu führen.

Die von Dubost (8), Küss (24), und anderen (20, 43, 58) ausgeführten Nierentransplantationen auf unbehandelte Empfänger brachten durchwegs schlechte Resultate.

Die erste Nierentransplantation zwischen einiigen Zwillingen wurde 1954 von Merrill (37) mit Erfolg durchgeführt.

Empfängerbehandlung mit Ganzkörperbestrahlung führte 1959 zur ersten erfolgreichen Nierenallotransplantation bei nicht verwandten Empfängern durch Hamburger (14).

In Kombination mit Steroiden wurden mit dieser Methode anfänglich gute Resultate erzielt (38, 44, 59).

Auf lange Sicht waren die Ergebnisse aber noch nicht befriedigend: Von 72 solchen Allotransplantaten, die vor 1962 durchgeführt wurden, waren 1965 nur noch 3 funktionstüchtig (45).

Erst die Anwendung von Azathioprine und anderer Immunsuppressiva (12, 31) brachte auch verbesserte Spätresultate: In der Veröffentlichung von Starzl et al. (62) 1963 waren von 10 Patienten nach 46 bis 218 Tage post operationem noch 8 am Leben.

Von nun an rückte die Nierenallotransplantation immer mehr in das Stadium klinischer Anwendbarkeit.

Nach einer Schätzung von Largiadèr (30) wurden bis 1970 3000 Nierenallotransplantationen durchgeführt.

Ab 1963 wurden auch andere Organe wie Leber (63, 64), Milz (73), und Lunge (16) von Mensch zu Mensch übertragen. Im Anschluß an

die erste Herztransplantation durch Barnard wurden bis März 1974 233 (1a) Herztransplantationen durchgeführt. Mit der Entwicklung eines Antilymphozytenserums (74) und der Anwendung des HL-A-Test Systems (66) wurden Immunsuppression und Spenderauswahl verbessert.

Gerade die Fortschritte der klinischen Organtransplantation haben jedoch neue logistische Probleme deutlich werden lassen:

Die Verfügbarkeit von Spenderorganen in ausreichender Anzahl zu jedem erforderlichen Zeitpunkt ist mit der schnell wachsenden Anzahl von Operationen immer schwieriger zu gewährleisten. Eine Lösung dieses Problems durch langfristige Lagerung von Organen in Banken erscheint in absehbarer Zeit noch nicht möglich. Aus diesen Gründen und ermutigt durch die Erfolge der immunsuppressiven Therapie in der Entwicklung der Allotransplantation wurde seit 1963 die Übertragung tierischer Organe auf den Menschen wieder aufgenommen. Man ging dabei davon aus, daß eine erfolgreiche Übertragung von Organen über die Speziesbarriere hinweg am ehesten zwischen Arten möglich sein würde, die eng miteinander verwandt sind. Hitchcock begann 1963 mit der Übertragung einer Pavianniere auf den Menschen (18). Andere Gruppen folgten (52, 67). Das weitaus beste Resultat wurde mit einer Überlebenszeit von 9 Monaten von Starzl erzielt (65), der eine Schimpansenniere verpflanzte. Hardy transplantierte 1964 ein Schimpansenherz auf einen 68 Jahre alten Patienten (17).

All diese Operationen waren klinische Mißerfolge und führten zur Einstellung weiterer Xenotransplantationen auf den Menschen.

Die Suche nach einem geeigneten nicht humanen Spender bleibt jedoch ein vordringliches Problem der experimentellen Organtransplantation. Nur die Verwendung tierischer Organspender würde garantieren, daß für jeden Patienten mit therapieresistenter Insuffizienz eines Organs zu einem wählbaren Zeitpunkt und Ort ein entsprechendes Transplantat verfügbar ist (27).

Die experimentellen Studien sind dabei nicht auf die nah verwandten Primaten beschränkt. Vom vergleichend anatomischen und physiologischen Standpunkt aus wäre unter den entfernt verwandten Spezies das Schwein möglicherweise als Spendertier für den Menschen geeig-

net (27).

Im xenogen fern verwandten System kommt es aber zu einer schnellen und besonders heftigen Abstoßung des transplantierten Organs - der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion - im Folgenden kurz HXAR. Für diese Form der Abstoßung werden sogenannte präformierte, präexistente humorale Antikörper im Kreislauf des Empfängers gegen artfremdes Organgewebe verantwortlich gemacht (27). Diese Antikörper werden entweder durch ihren Komplementverbrauch bei der Reaktion mit spezifischem Antigen (KBR) oder durch ihre agglutinierenden Eigenschaften gegenüber Leuko-, Thrombo- und Erythrozyten nachgewiesen.

Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe hatten ergeben, daß die Konzentration hämagglutinierender und Komplement verbrauchender Antikörper gegen Schweineantigen im Menschen und Hundeblood stark differiert (15a).

Diese Tatsache war für uns Anlaß zur ersten Fragestellung dieser Arbeit:

Besteht ein Zusammenhang zwischen Schnelligkeit und Ausmaß der HXAR einerseits und der angebotenen Art und Menge nachweisbarer präexistenter Antikörper andererseits? Eine Untersuchung des Schicksals eines transplantierten xenogenen Organs nach einer Perfusion mit Menschenblood kann nur in einem In Vitro Modell erfolgen.

Es ergab sich also als weitere Aufgabe, ein solches Modell zu entwickeln und seine generelle Eignung zum Studium der HXAR zwischen den genannten Spezies zu prüfen.

Entsprechend der häufigen Verwendung als klinisches Allotransplantat war die Niere bis jetzt das am meisten verwendete Testorgan der experimentellen Transplantation.

Zur Untersuchung der HXAR in fern verwandten Spezies schien uns aber das Herz ein wichtiges Testorgan, da besonders bei unpaaren Transplantationsorganen fern verwandte Spezies von Bedeutung werden könnten.

II Methodik

15 Schweineherzen wurden in einer dafür entwickelten Perfusionsanlage mit Human- oder Hundeblut perfundiert.

Das Koronarsystem wurde dabei über die Aorta durchströmt.

A: Das Material

Die Herzen mit einem Gewicht von 50 bis 60g wurden Ferkeln beiderlei Geschlechts im Alter zwischen 2 und 4 Monaten entnommen.

Hundeblut zwischen 80 und 400 ml wurde gemischt rassigen Tieren beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 20 bis 25 kg frisch entnommen.

Humanblut entnahmen wir gesunden Spendern unmittelbar vor dem Versuch ohne Berücksichtigung der Blutgruppe.

Die Hämoperfusate wurden mit 750 E¹ /10 ml Blut heparinisiert.

Der Hämatokrit lag zwischen 32 und 36%.

Die Temperatur der Perfusate wurde durch einen Wärmeaustauscher auf 37°C gehalten.

Versuchsbeschreibung

Die Organspender wurden mit 25 mg Nembutal² kg/KG in die Ohrvene narkotisiert. Im Anschluß daran wurde die Tracheotomia inferior durchgeführt und die Tiere durch einen Pulmonat³ mit einem Gasgemisch von 70% N₂ und 30% O₂ volumenkontrolliert beatmet.

Der Thorax wurde durch eine mediane Sternotomie eröffnet. Nach Freilegung des Herzens im Brustsitus und Eröffnung des Perikards wurden die großen Gefäße präpariert.

Nach Heparinisierung mit 3 mg/kg KG Heparin erfolgte die Durchtrennung der Gefäße. Das Herz wurde entnommen und in eine 0,9% NaCl Lösung gebracht. Hier wurde die ascendierende Aorta von der Arteria pulmonalis getrennt und proximal vom Truncus brachiocephalicus abgesetzt. Linker Vorhof, rechter Vorhof und die Arteria pulmonalis bleiben offen. In den Aortenstumpf wurde eine 3cm lange

¹ Novo Industrie GMBH Mainz

² Deutsche Abbot GMBH Ingelheim (Rhein)

³ Drägerwerk Lübeck

Kanüle mit einem Durchmesser von 4 mm eingebunden. Die durchschnittliche Ischämiezeit während der Präparation bei 20°C betrug 6 Minuten und überschritt nie das Maximum von 8 Minuten. Nun wurde das Herz in die Perfusionskammer eingebracht und die Kanüle mit dem distalen Ende des Wärmeaustauschers über einen Silikon-gummischlauch verbunden und damit der Perfusionskreislauf geschlossen. Das System war mit 80 ml autogenem Blut während der Präparation gefüllt worden und nach sorgfältiger Entlüftung wurde mit der Perfusion begonnen. Nach einer Dauer der Reperfusion mit autologem Blut von durchschnittlich einer Minute konnten die flimmernden Herzen durch einen einmaligen Elektroschock von 15 bis 20 Joule defibrilliert werden und schlugen danach kräftig im Sinus-Rhythmus.

B: Der Perfusionskreislauf

Über eine Rollerpumpe wird das Blut aus dem Reservoir der Perfusionskammer durch einen Oxygenator in das arterielle Reservoir gepumpt. Von hier aus erfolgt eine Schwerkraftperfusion des Koronarsystems mit einem Druck von 50 cm Wassersäule.

Das venöse Koronarblut gelangt aus dem Sinus coronarius in das Reservoir der Perfusionskammer A, in dem das Herz schwimmt. Die Temperatur im Perfusionssystem wurde durch einen Wärmeaustauscher in der arteriellen Leitung konstant bei 37°C gehalten. Wärmeflüssigkeit war destilliertes Wasser, das in D aufgeheizt und durch den Wärmekreislauf gepumpt wurde. Der Spiegel des arteriellen Reservoirs im Oxygenator wurde durch Einstellen der Pumpendrehzahl auf ± 1 cm konstant gehalten.

Bei der Perfusion der Herzen wurden 3 Phasen unterschieden:

1. Phase:

15 Minuten Vorperfusion mit autogenem Blut als Kontrollperiode für den nachfolgenden Übergang auf Human- oder Hundeblut.

2. Phase:

2 Minuten Auswaschperfusion mit Ringer Lösung. In dieser Phase wurden die Bestandteile des autogenen Vorperfusates aus dem System entfernt, um Immunreaktionen zwischen den einzelnen Perfusaten zu vermeiden.

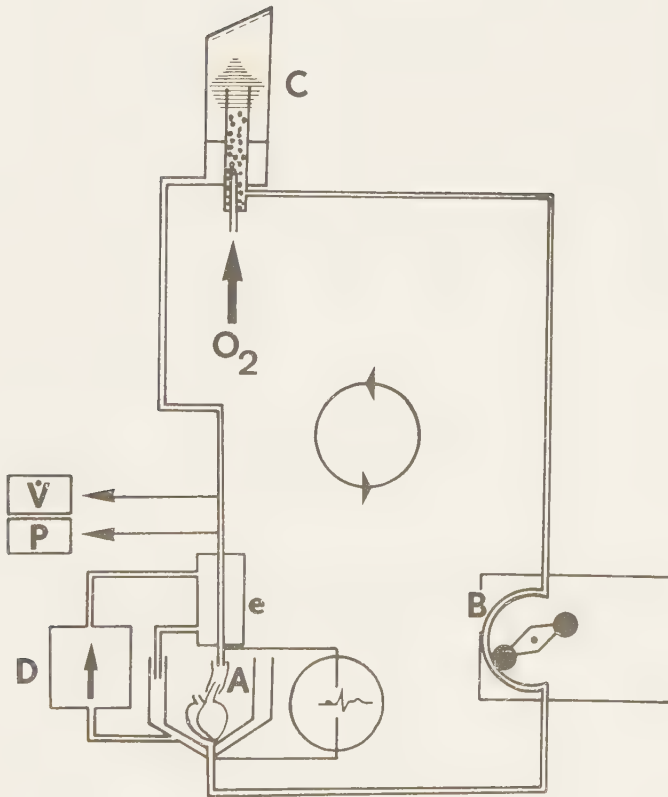


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung

A: Perfusionskammer mit Wärmemantel

B: Pumpe

C: Oxygenator

D: Umwälzthermostat

V: Elektromagnetischer Strömungsmesser

P: Elektromanometer

e: Wärmeaustauscher

3. Phase:

Perfusion mit Hunde- oder Humanblut bis zum Herzstillstand oder höchstens 120 Minuten.

Die Perfusionsanlage in ihren Einzelheiten:

Perfusionskammer und Oxygenator sind an einem Stativ übereinander angebracht. Die Verbindung der einzelnen Elemente untereinander geschieht über Silikongummischläuche und konische Plastiksteckverbindungen.

a) Die Perfusionskammer

Die Perfusionskammer bestand aus doppelwandigem Polyäthylen, ihr Volumen betrug 500 ml.

Die Wärmeflüssigkeit wurde durch den äußeren Mantel zirkuliert.

b) Die Pumpe

Es wurde eine De Bakey Rollerpumpe⁴ mit 2 Rollen und einem Innendurchmesser von 120 mm verwendet.

Linearität der Eichkurve und Occlusivität wurden geprüft.

c) Der Oxygenator

Es wurde ein Gasdispersionsoxygenator eigener Konstruktion vom konzentrischen Typ verwendet. Der Durchmesser der Oxygeniersäule betrug 13 mm, die Höhe 130 mm. Sauerstoff wurde durch einen perforierten Polyäthylenstutzen mit 300 ml/Min eingeleitet.

Die Blasengröße der Gasdispersion betrug ca. 1,5 mm.

Zur Entschäumung diente silikonisierte Stahlwolle.

Die Leistung des Oxygenators wurde in Vitro mit venösem Menschenblut in 3 Versuchen getestet. Die arterielle Sauerstoffsättigung des Hämoglobins sank über den verwendeten Stromstärkebereich von 50 ml/Min nicht unter 98%.

⁴ Firma Weishaar, München

C: Gemessene Parameter

1. Überwachung der Herzfunktion

Der Koronarperfusionsdruck war durch die Höhe der über dem Herzen stehenden Blutsäule auf einen Wert von 50 cm Wasser festgelegt und wurde in allen Versuchen konstant gehalten.

Mit einem im arteriellen Perfusionsschenkel gelegenen elektromagnetischen Flußmeßkopf⁵ wurde das Koronarstromvolumen gemessen. Somit konnten Änderungen des Gefäßwiderstandes erfaßt werden, der bei gleichbleibendem Perfusionsdruck den Koronarfluß bestimmte.

Das bipolar in der Perfusionskammer abgenommene EKG des isolierten Herzens wurde nach Frequenz und maximaler Spannung der R-Zacke ausgewertet.

Eine qualitative Analyse des EKG wurde nicht vorgenommen.

2. Das Blutbild

Leukozyten- und Thrombozytenzahl im Perfusat wurden 0 - 15 - 30 - 60 - 120 Minuten nach Versuchsbeginn bestimmt.

3. Titerbestimmungen

a: Titerbestimmungen der direkt hämagglutinierenden Antikörper (AK) gegen Schweineerythrozyten im Menschen bzw. Hundeserum: Zur Herstellung der Antigen-Erythrozytensuspension wurde EDTA-Schweineblut mit physiologischer NaCl-Lösung 1:40 verdünnt und abzentrifugiert. Dieser Vorgang wurde 2 mal wiederholt und 0,2 ml des letzten Sediments mit 50 ml gepufferter physiologischer NaCl-Lösung auf eine Konzentration von ca. 50 000 Ery/mm³ verdünnt.

Als Serum wurde in allen Fällen bei -20°C aufbewahrtes Menschen- bzw. Hundeserum verwendet, das vor der Verarbeitung 30 Minuten bei 56°C Komplement - inaktiviert wurde.

⁵ Carolina Medical Electronics, Durham, N.C., USA

Vorgehen: In Röhrchenreihen wurden 0,1 ml NaCl 0,9% mit 0,1 ml Serum in reiner geometrisch progredienter Verdünnungsreihe angesetzt und in jedes Röhrchen 0,1 ml Zellsuspension zugefügt. Nach Schütteln wurde erst bei 37°C 90 Minuten und bei 10°C 30 Minuten inkubiert.

Darauf wurden die Zellsuspensionen auf einen Objektträger getropft und mikroskopisch auf Agglutinate abgelesen.

b: Nachweis komplementbindender Antikörper gegen Schweineantigen im Menschen und Hundeserum (KBR Makrotest)

Semiquantitative Komplementtitration:

Frische, blutleere Schweinenieren, -lebern und -herzen wurden zerkleinert und 1 ml des Gewebebreis wurde in 10 ml Liebermeierpuffer (Ph 7,2 - 7,4) homogenisiert und das Homogenat 20 Minuten bei 5 000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde mit Liebermeierpuffer verdünnt.

Endkonzentration der Organhomogenatsuspension: 500 mg %.

Zur Abschätzung der Komplementaktivität im Gewebesystem wurde aus einer Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Meerschweinchen-serums⁶ (1:10, 1:20, 1:50) ein Tropfen zu 0,6 ml sensibilisierten Hammelerythrozyten⁷ gegeben. Nach 40 Minuten Inkubation bei 37°C wurde die aufgetretene Lyse qualitativ geprüft. Jede größere Verdünnung, die noch eine Hämolyse verursachte, wurde als minimale hämolysierende Dosis standardisiert

Semiquantitative Antigentitration:

Zur Abschätzung günstiger Antigenkonzentrationen im gewählten System wurde eine Verdünnungsreihe der zu untersuchenden Organhomogenatsuspension (1:10, 1:20, 1:50) in Liebermeierpuffer angesetzt. Zu einem Tropfen aus jeder Verdünnung erfolgte Zugabe von 1 Tropfen titriertem Meerschweinchenkomplement, sowie 0,6 ml sensibilisier-

⁶ Meerschweinchenkomplement der Firma Hyland Travenol Mü.

⁷ Hammelerythrozyten aus der Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung, Schleißheim bei Mü

ter Hammelerythrozyten. Nach 40 Minuten Inkubation bei 37°C wurde die aufgetretene Lyse abgelesen

Sensibilisierung der Hammelerythrozyten:

Hammelerythrozyten aus frischem Citratblut wurden 3 mal in 0,9% NaCl gewaschen und in Liebermeierpuffer suspendiert (2 ml Sediment in 35 ml Puffer). Nach Hinzufügen von 10 ml Aqua dest. zu 0,5 ml dieser Suspension erfolgte photometrische⁸ Messung der Lösung bei 546 nm. Die Konzentration der Zellsuspension wurde so eingestellt, daß Extinktionswerte von 0,56 erhalten wurden. Zu 20 ml Zellsuspension erfolgte Zugabe von 5 ml Amboceptor (Hämolysingemisch⁹) und 15 ml Liebermeierpuffer. Danach 40 Minuten Inkubation bei 37°C . Die Aufbewahrung erfolgte bei $+4^{\circ}\text{C}$ im Kühlschrank. Vor Gebrauch wurde das Gemisch 1:6 mit Liebermeierpuffer verdünnt.

Hauptreaktion:

Im Röhrchentest wurden in allen Röhrchen der Reihe mit einer ge-
eichten Tropfpipette ein Tropfen Serum einer mit Liebermeierpuffer
geometrisch fallend angesetzten Verdünnungsreihe ein Tropfen aus-
titrierte Organhomogenatsuspension, ein Tropfen austitriertes Meer-
schweinchenkomplement zugesetzt. Nach 90 Minuten Inkubationszeit
bei 37°C wurden 0,6 ml der sensibilisierten Hammelerythrozyten
hinzugefügt. Nach Mischen und 40 Minuten Inkubation bei 37°C er-
folgt Ablesung.

Hämolysen: Keine Komplementbindung. Nichthämolysen: Komplement-
bindung. Das letzte Röhrchen vor der vollständigen Hämolysen gab den
Titer.

Kontrollen:

- a: Austitriertem Organhomogenat wurden die sensibilisierten
Hammelerythrozyten ohne Serum zugesetzt.

⁸ Photometer Eppendorf

⁹ Firma Hyland Travenol, Mü.

- b: Dem Serum der angesetzten Verdünnungsreihe wurden die sensibilisierten Hammelerythrozyten ohne Organhomogenat zugesetzt.

4. Die histologischen Untersuchungen

Sofort nach Versuchsende wurden je 10 bis 15 g Gewebe aus dem linken Ventrikel - bei abgestoßenen Herzen auch aus dem rechten Ventrikel - in Susa bzw. Acrylat fixiert.

Folgende Färbemethoden wurden verwandt:

HE-Färbung, Van Gieson, Ladewig Fibrinfärbung, PAS (Period-Acid-Schiff Schleimfärbung), und Giemsa.

5. Immunfluoreszenz

Etwa 10 g des zu untersuchenden Materials wurden sofort nach Versuchsende in flüssigem N_2 auf $-196^{\circ}C$ tiefgeköhlt. Die Schnitte wurden im Kryostat angefertigt und einen Tag luftgetrocknet. Danach wurden sie mit Antiseren¹⁰ gegen die gesuchten Immunglobuline überschichtet. Das Antiserum ist mit Fluoreszeinsthiozyanat (FITC) markiert, das unter UV-Licht grün fluoresziert. Die überschichteten Schnitte werden erst 2 mal mit PBS (Phosphat gepufferter Kochsalzlösung) und nach 30 Minuten Inkubation in feuchter Kammer erneut 3 mal 10 Minuten in PBS gewaschen.

Dadurch werden die Globuline, die nicht durch eine AG - AK Reaktion gebunden sind, aus den Schnitten entfernt, so daß nur noch die an die homologen Antigene gebundenen Antikörper im Präparat verbleiben.

Danach werden die Schnitte im PBO-Glycerin Gemisch eingedeckt und untersucht.

6. Einteilung in Versuchsgruppen

Die Unterteilung in Versuchsgruppen geschah nach 2 Gesichtspunkten:

1: Nach der Art der Perfusionsmedien:

Wir perfundierten sowohl mit Hunde- als auch mit Menschenvollblut.

¹⁰ Anti γ -Globulinseren vom Kaninchen, Fa. Nordig.

2: Nach der Menge der angebotenen Antikörper:

Durch Perfusatvolumina von 80 - 100 und 300 - 400 ml wurde die Gesamtmenge der absorbierbaren Antikörper verdrei- bis verfünffacht.

Gruppe A:

Kontrollversuche mit Autogenblutperfusion und einer Perfusatmenge von 80 - 100 ml.

Gruppe B:

Xenoblutperfusion mit Menschenblut und einer Perfusatmenge von 80 - 100 ml.

Gruppe C:

Xenoblutperfusion mit Menschenblut und einer Perfusatmenge von 300 - 400 ml.

Gruppe D:

Xenoblutperfusion mit Hundeblut und einer Perfusatmenge von 80 - 100 ml.

Gruppe E:

Xenoblutperfusion mit Hundeblut und einer Perfusatmenge von 300 - 400 ml.

In jeder Versuchsgruppe wurden 3 Versuche (a, b, c,) durchgeführt.

III Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse ist so gegliedert, daß in jedem Abschnitt alle 5 Gruppen hinsichtlich eines Parameters verglichen werden.

1. Überlebenszeiten in den Versuchsgruppen

Die isolierte Perfusion der Herzen wurde bis zu einer maximalen Zeit von 120 Minuten durchgeführt. Trat während dieser Zeit eine HXAR auf, wurde die maximale Überlebenszeit des Organs als Zeitpunkt des Stillstandes der elektrischen Herztätigkeit definiert.

Zu den einzelnen Gruppen ergab sich:

Gruppe A:

In den Kontrollversuchen blieb die Organfunktion bis über 120 Minuten unverändert. Die mittlere Höhe der R Zacke des EKG betrug 16 mV.

Gruppe B:

Die mit Menschenblut einer Perfusatmenge zwischen 80 und 100 ml xenoperfundierte Herzen hielten ebenfalls ihre Funktion über 120 Minuten aufrecht. Die mittlere Höhe der R-Zacke des EKG betrug 15 mV.

Gruppe C:

In der Gruppe C erhielten wir die gleichen Überlebenszeiten über 120 Minuten wie in der Gruppe B. Auch die Spannung der R-Zacke war dieselbe.

Gruppe D:

Die mit Hundeblood einer Perfusatmenge zwischen 80 und 100 ml xenoperfundierte Herzen stellten ihre Funktion in zwei Versuchen nach 90 Minuten, in einem Versuch nach 95 Minuten ein. Innerhalb der ersten 15 Minuten nahm die Spannung der R-Zacke von 10 auf 1 - 4 mV ab und blieb bei dieser Höhe bis zum Sistieren der elektrischen Herztätigkeit bei 90 und 95 Minuten

Gruppe E:

Die mit Hundeblood und einer Perfusatmenge zwischen 300 und 400 ml xenoperfundierte Herzen stellten ihre Funktion nach 15, 25 und 45 Minuten ein. Innerhalb von 3 Minuten nach dem Blutwechsel erfuhr das EKG die gleichen Veränderungen wie in der Gruppe D. Nach 15

Minuten wurde der Herzschlag unregelmäßig. Am Ende der Versuche flimmerten die Herzen, wobei Defibrillationsversuche erfolglos blieben.

Zur Verdeutlichung sind die unterschiedlichen Überlebenszeiten in den einzelnen Gruppen in Abbildung 2 dargestellt.

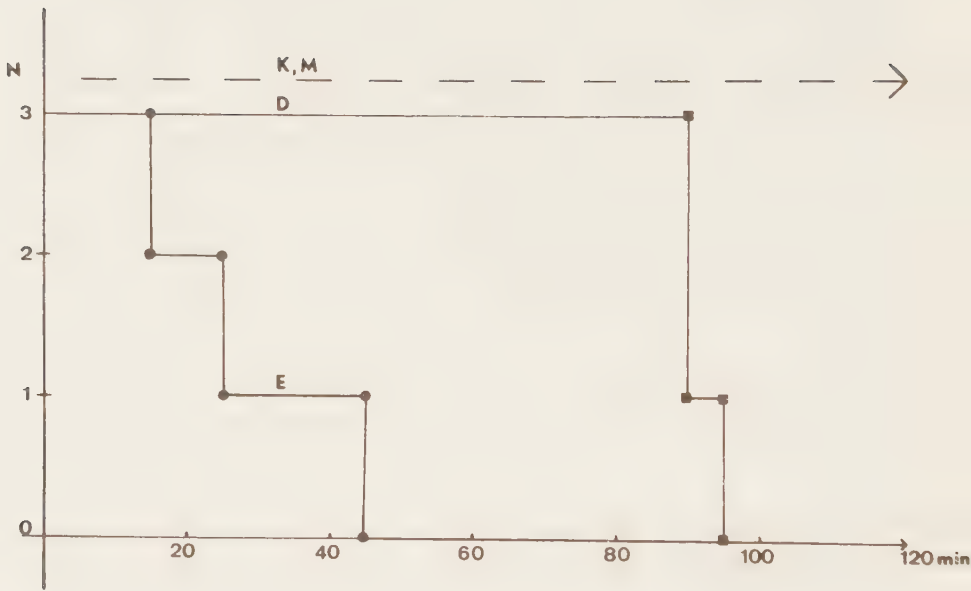


Abb. 2: Überlebenszeiten autogen und xenogen perfundierter isolierter Schweineherzen.

Ordinate: Anzahl der Versuche

Abszisse: Zeit bis zur HXAR

K: Autologe Kontrollen (Gruppe A)

M: Perfusion mit Humanblut (Gruppe B u. C)

D: Perfusion mit Hundeblut 80 - 100 ml (Gruppe D)

E: Perfusion mit Hundeblut 300 - 400 ml (Gruppe E)

2. Die Organdurchblutung

Die Einzelwerte der Durchblutungsgrößen sind in Tabelle I aufgeführt.

In der Gruppe A (autologe Kontrollen) betrug die mittlere Organdurchblutung 108 ml/min 100g Herzgewicht (HG = Frischgewicht zu Versuchsbeginn). Dieser Wert blieb über 2 Stunden konstant. In der Gruppe B war die Durchblutung zunächst 103 ml/min 100 g HG, stieg jedoch im Verlauf der nächsten 120 min. auf 113 ml/min 100 g HG. In der Gruppe C dagegen sank die Organdurchblutung bereits innerhalb der ersten 30 min. um durchschnittlich 44% des Ausgangswertes auf 58 ml/min 100 g HG, um dann bis zum Abbruch nach 120 min. konstant zu bleiben.

Innerhalb der ersten 15 min. sank in der Gruppe D die Organdurchblutung um 53%. In der Gruppe E sank die Organdurchblutung innerhalb der ersten 3 min. auf 24,7% des Ausgangswertes. Danach ergaben sich bis zum Auftreten der HXAR keine deutlichen Änderungen mehr.

In Abbildung 3 wurden die je 6 Perfusionen mit Human- bzw. Hundeblut zu 2 Gruppen zusammengefaßt und das Verhalten der Organdurchblutung dargestellt. Es fällt auf, daß bei der Perfusion mit Menschenblut gegenüber dem Hundeblut als Perfusat eine wesentlich geringere Abnahme der Durchblutung vom Kontrollwert beobachtet wurde.

ml / 100g · min.

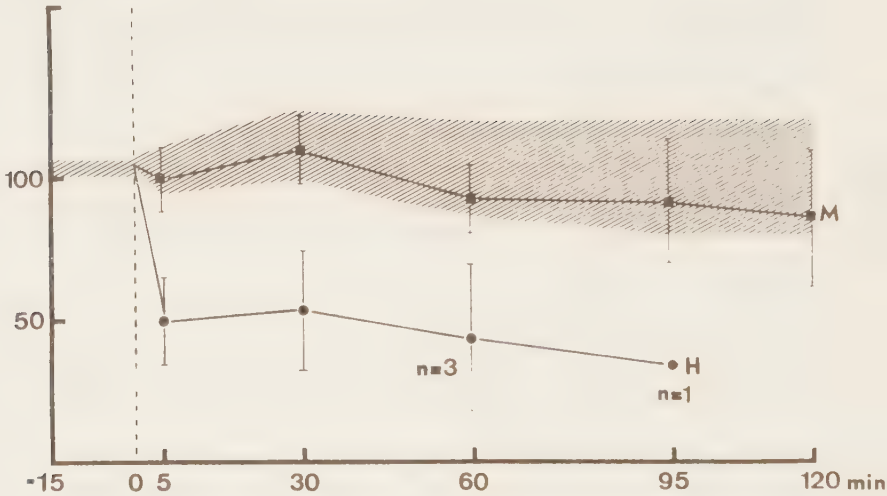


Abb. 3:

Verhalten der Organdurchblutung von isoliert perfundierten Schweineherzen ($P = 50$ cm WS) während 15 minütiger Vorperfusion (autolog) nach Wechsel auf xenogenes Perfusat zum Zeitpunkt 0.

M: Humanblut

H: Hundeblut

Schraffiert: Kontrollbereich. Angegeben sind die Mittelwerte und mittleren Fehler der Mittelwerte.

3. Die Herzgewichte

In den einzelnen Gruppen verzeichneten wir nach Beendigung der Versuche verschieden starke Gewichtszunahmen der Herzen.

In der Abbildung 4 werden diese Gewichtszunahmen in % des Ausgangswertes pro Minute Versuchsdauer (Ordinate) für die verschiedenen Gruppen aufgetragen. Während sich bei einer Perfusatmenge von 80 bis 100 ml Humanblut kein Unterschied gegenüber den autologen Kontrollen erkennen läßt, beträgt die Gewichtszunahme bei 300 bis 400 ml Humanblut bereits fast das Doppelte. Um einen weiteren Faktor 2 - 5 erhöht sich dagegen die Gewichtszunahme bei Verwendung von Hundeblut als Perfusat erheblich stärker.

Abbildung 5 zeigt die Korrelation von Zunahme der Organgewichte und Abnahme der Organdurchblutung am Versuchsende in den verschiedenen Gruppen. Je höher die Gewichtszunahme, desto größer ist der Abfall der Organdurchblutung.

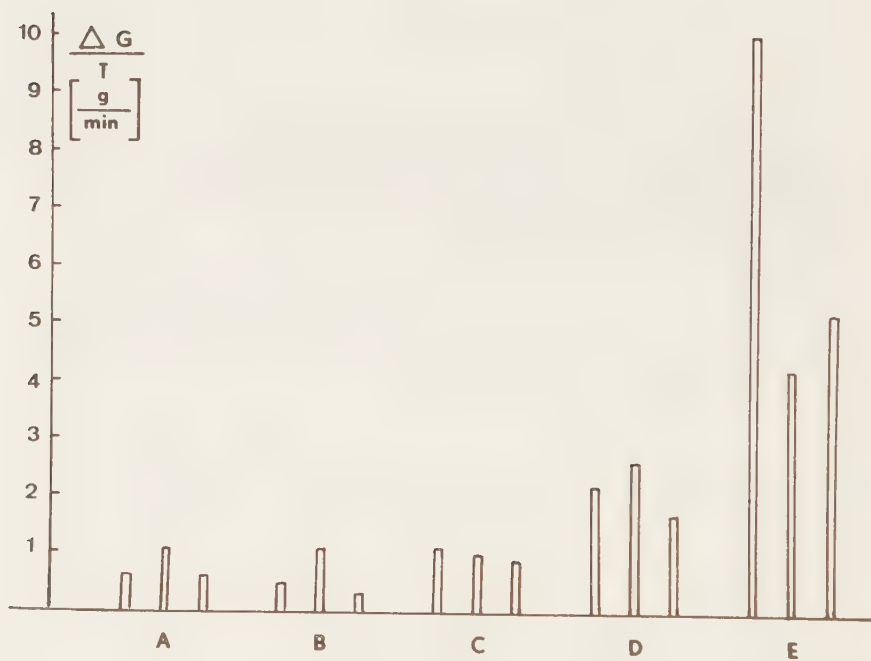


Abb. 4:

Gewichtszunahmen pro Versuchsdauer in den einzelnen Gruppen.

Tabelle I: Verhalten von Organdurchblutung und Organgewicht isolierter Schweineherzen nach autogener und xenogener Perfusion mit Human- und Hundeblut.

	Durchblutung		HXAR	ΔV	%	%
	Anfangswert ml /	Endwert 100g min				
Gruppe A a:	105, 43	110, 50	-	+ 4, 7	+ 6	
b:	109, 00	109, 00	-	0	+13	
c:	106, 50	104, 00	-	- 2, 3	+ 6	
Gruppe B a:	103, 00	114, 50	-	+11, 2	+ 7	
b:	102, 50	110, 00	-	+ 7, 3	+13	
c:	104, 80	114, 00	-	+ 8, 8	+ 4	
Gruppe C a:	102, 00	57, 50	-	-43, 5	+13	
b:	103, 80	62, 00	-	-40, 0	+12	
c:	105, 60	54, 00	-	-49, 0	+11	
Gruppe D a:	108, 00	38, 50	90	-35, 3	+20	
b:	106, 30	41, 20	90	-61, 3	+24	
c:	101, 20	37, 20	95	-62, 5	+16	
Gruppe E a:	104, 30	22, 60	15	-78, 5	+15	
b:	106, 00	32, 00	45	-70, 0	+19	
c:	103, 50	23, 00	25	-77, 5	+13	

Angegeben sind die absoluten Werte der Durchblutung am Versuchsbeginn und nach 120 min. (Endwert) bzw. zum Zeitpunkt der HXAR, sowie die prozentuale Differenz zum Anfangswert für Durchblutung und Herzgewicht am Versuchsende.

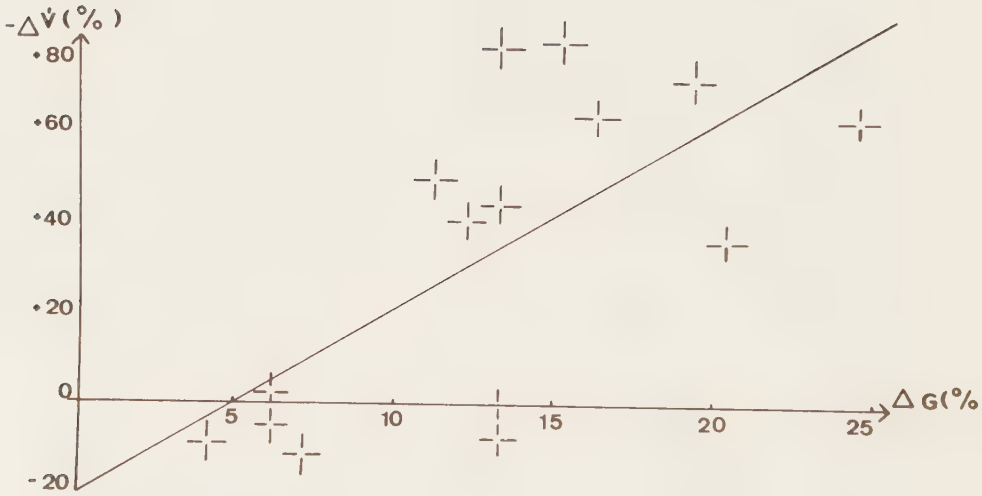


Abb. 5:

Abnahme der Durchblutung am Versuchsende (Ordinate) in Abhängigkeit von der Gewichtszunahme (Werte in % des Ausgangswertes).
Korrelationskoeffizient: $r = 0,68$

4. Serologische Aktivität

Wir bestimmten die Titer der direkt hämagglutinierenden Antikörper im Hunde- und Menschenblut gegen Schweineerythrozyten, sowie die Titer der komplementverbrauchenden zytotoxischen Antikörper in beiden Perfusionsmedien, die gegen das Herzgewebe der Schweine gerichtet waren.

In Tabelle II sind die Titer dieser präformierten Antikörper zusammengestellt:

Tabelle II: Titerstufe hämagglutinierender und komplementbindender Antikörper im Human- bzw. Hundeserum.

	HAagl	KBR - Herz
Humanblut:	32 - 64	0
Hundeblut:	64 - 128	64 - 128

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß mit unseren Methoden im Menschenblut keine zytotoxischen komplementverbrauchenden Antikörper gegen Schweineherzantigen nachweisbar waren, jedoch wurden in beiden Perfusionsmedien hämagglutinierende Antikörper gefunden.

5. Makroskopisch und histologisch feststellbare Veränderungen an den Herzen.

a: Makroskopisch feststellbare Veränderungen:

In den Gruppen A bis C keine deutlich feststellbaren Veränderungen im Verlauf der Versuche. In den Gruppen D und E kam es nach einer Perfusionszeit von ca. 20 Minuten zur Ausbildung subepicardialer petechialer Blutungen entlang dem Verlauf der großen Koronargefäße, die sich im weiteren Verlauf flächenhaft ausbreiteten. Am Versuchsende nach Auftreten der HXAR zeigten sich die Herzen dunkel livide verfärbt und wiesen eine deutliche Myokardverhärtung auf.

Auf der Schnittfläche ließen sich die bläulichen Herde vor allem in den äußeren Muskelschichten erkennen, das Myokard hatte einen trüben, pastellfarbenen Ton. Das Endokard zeigte in Konsistenz und Farbton keine auffallenden Veränderungen.

b: Die histologischen Veränderungen:¹¹

Eine Übersicht der erhobenen histologischen Befunde bietet Tabelle II.

In der Gruppe A konnten an den Herzen keine wesentlichen pathologischen Veränderungen festgestellt werden, mit Ausnahme von einem Fall mit mittelgradiger intravasaler Granulozytenvermehrung.

Bei der Perfusion der Gruppe B mit Menschenvollblut traten vereinzelt Thrombozytenaggregate und herdförmige Kapillarhyperämie auf. In einem Fall wurde ein disseminierte interstitielles Ödem gefunden.

Immunhistologisch zeigte sich bei allen Organen dieser Gruppe ein konstanter Befund: Eine positive Reaktion von Antihuman IgG im Bereich der Kapillarwände. In der Gruppe C war das Myokard unauffällig mit vereinzelt perinukleären Vakuolen in den Muskelzellen.

Im Vergleich zur Gruppe B kam es intravasal vermehrt zum Auftreten von Granulozyten und zur Bildung von Thrombozytenaggregaten. Die immunhistologischen Befunde entsprechen denen der Gruppe B.

Wesentlich ausgeprägtere histologische Veränderungen zeigten die mit Hundeblood perfundierten Herzen der Gruppen D und E, die sich qualitativ in beiden Gruppen nicht unterschieden. Zum Teil kam es zur vollständigen Ausfüllung der Kapillaren durch Thrombozytenaggregate. Die Gefäße waren stark hyperämisch, das Interstitium durch Ödem stark erweitert. In den Arterien geringe Mediavakuolisierung und vakuoläre Endothelabhebung. Bei den Endothelzellkernen traten vermehrt Karyolysen und Pyknosen auf.

Immunhistologisch: Positive Antihunde IgG Reaktion an den Kapillaren in granulär streifiger Form. Dazu perivasale Ablagerungen des Hundeimmunglobulins um größere Arterien. Die Tests mit Antihundekomplement ergaben eine deutlich streifige Fluoreszenz in den Kapillaren.

¹¹ Die histologische Auswertung des Herzens erfolgte durch Herrn Dr. K. Pielsticker, Path. Institut der Univ. München.

Mediavakuolen und Endothelabhebungen (die jedoch als unspezifisch für die HXAR gelten) wurden ebenfalls in den mit Hundeblut perfundierten Gruppen häufiger angetroffen.

Tabelle III: Histologische Veränderungen in allen Versuchsgruppen.

	Autolog		Mensch		Hund	
		A	B	C	D	E
Kapillarläsion mit Endothelkernpyknosen	a	0	0	0	+	++
	b	0	0	+	+	+++
	c	0	0	+	++	
Intravasale Thrombo- zyten und Leukozyten Aggregate	a	0	0	+++	+++	+++
	b	0	+	+	++	+++
	c	0	+	+	++	+++
Interstitielles Ödem	a	0	0	+	++	+++
	b	0	0	0	+++	++
	c	0	++	0	+++	++
Mediavakuolen und Endothelabhebung	a	0	0	+	+	++
	b	+	+	0	0	+
	c	0	0	0	+++	+

0 abwesend
+ vereinzelt
++ häufig
+++ stark

6. Die Leuko- und Thrombozytenzahlen der einzelnen Perfusate.

In der Tabelle 4 sind die absoluten Leukozytenzahlen (errechnet aus Perfusatmenge x Zellkonzentration) bei 15, 30, 60 und 120 min. angegeben, die im Perfusionskreislauf über die Versuchsdauer zerstört wurden.

Im Vergleich zu den Xenoperfusionen liegen die autologen Kontrollen

überraschend hoch. Es fällt jedoch auf, daß in den Gruppen mit einer Perfusatmenge zwischen 300 und 400 ml das 4 bis 5 fache bei den Versuchen mit Humanblut - bei den Versuchen mit Hundeblut noch mehr - der Leukozyten zerstört werden, als in den Gruppen mit einer Perfusatmenge zwischen 80 und 100 ml. Weiterhin fällt beim Vergleich der autologen Kontrollen und Xenoperfusion auf, daß von der 30. Minute bis zum Versuchsende bei den autologen Kontrollen die Zahl der zerstörten Leukozyten nur mehr mäßig ansteigt, sich bei den Xenoperfusionen jedoch verdoppelt bis verdreifacht. Die Tabelle 5 zeigt die entsprechenden Thrombozytenzahlen. Auch hier werden bei größerem Perfusatvolumen entsprechend mehr Thrombozyten zerstört als bei den Versuchen mit kleinem Perfusatvolumen. Die Zellzerstörung bei autologen Kontrollen und Xenoperfusionen erfolgt jedoch eher gleichmäßig.

Tabelle 4:

Abnahme der absoluten Leukozytenzahl während autogener und xenogener Perfusion von Schweineherzen

		15 min.	30 min.	60 min.	120 min.
A	a	0	787	842	971
	b	0	204	278	349
	c	0	197	203	279
B	a	72	118	247	300
	b	9	23	103	199
	c	38	105	312	316
C	a	147	263	504	764
	b	92	332	445	752
	c	548	570	800	918
D	a	58	221	383	386
	b	30	69	206	279
	c	56	218	298	347
E	a	898	1044	45'	
	b	600	909	1131	
	c	480			

Absolute Leukozytenzahlen errechnet aus Leukozytenkonzentration (Zellen/mm³) x Perfusatsmenge.
 Werte in Millionen Zellen. Werte der autologen Kontrollen (A) korrigiert für Vorperfusionsmethode.

Tabelle 5:

Abnahme der absoluten Thrombozytenzahlen während autogener und xenogener Perfusion von Schweineherzen.

		15 min.	30 min.	60 min.	120 min.
A	a	0	39571	68951	88308
	b	0	7461	8111	11816
	c	0	7755	19132	25370
B	a	8552	24957	25125	27146
	b	9325	13676	16341	17596
	c	10660	21460	35897	40493
C	a	47595	77875	98000	101500
	b	40148	91700	121700	128240
	c	50872	98200	116180	117200
D	a	17430	26027	25755	90'
	b	14235	28825	33265	32025
	c	7437	23504	24420	34565
E	a	3500	22260	45'	27598
	b	59680	71040	59277	
	c	13977			

Absolute Thrombozytenzahlen, errechnet aus Thrombozytenkonzentration (Zellen/mm³) x Perfusatsmenge.
Werte in Millionen Zellen. Werte der autologen Kontrollen (A) korrigiert für Vorperfusionsmethode.

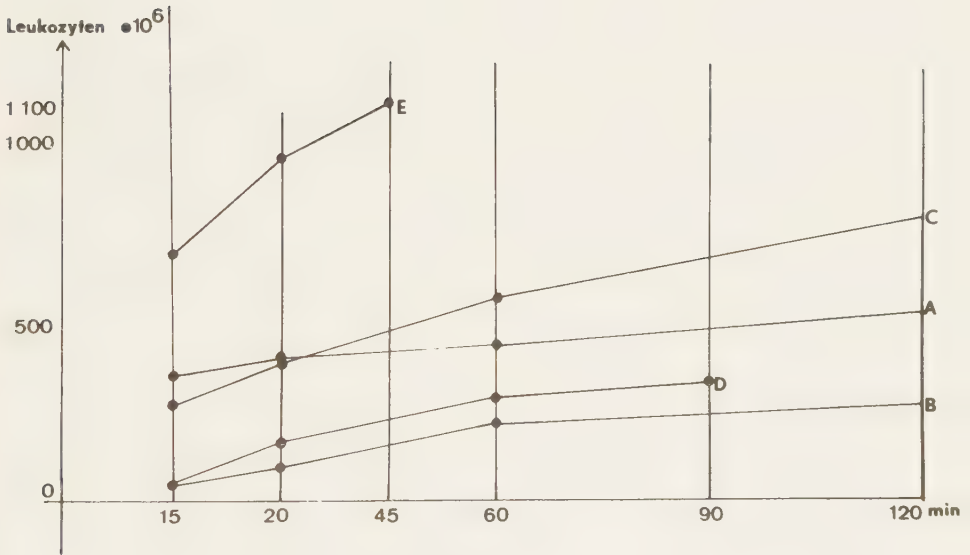


Abb. 6:

Die in den Gruppen A bis E im Perfusionskreislauf eliminierten Leukozyten.

Angegeben sind die Mittelwerte der absoluten Leukozytenzahlen.

IV. Diskussion

A. Methodik

1. Das isolierte Herzpräparat

Die Fragestellung nach einem möglichen Zusammenhang zwischen der Konzentration präexistenter Antikörper gegen Schweineantigen bei Mensch und Hund und dem Verlauf der HXAR verlangte die Entwicklung eines In-Vitro Modells zur xenogenen Perfusion isolierter Schweineherzen.

Um möglichst genau definierte Bedingungen beim Studium der hyperakuten Abstoßung zu erreichen, war in unserer Arbeitsgruppe (26) bereits ein Modell für die xenogene Perfusion isolierter Nieren entwickelt worden. Im System Ratte - Hund konnte dabei das Phänomen der HXAR beobachtet werden.

Der In-Vitro Versuch bietet sich zur Untersuchung der HXAR besonders an, da das Organ von sämtlichen Regulationsmechanismen des Gesamtorganismus getrennt ist, der methodische Aufwand gering ist, und die experimentellen Bedingungen konstant gehalten werden können. Soll darüber hinaus die Frage nach dem Schicksal tierischer Organtransplantate auf den Menschen bearbeitet werden, ergibt sich die Notwendigkeit zu In-Vitro Versuchen zwingend.

Die isolierte Perfusion eines Organs ist jedoch immer mit Nachteilen behaftet: Eiweiß und besonders geformte Bestandteile des Blutes sind in einem extrakorporalen Kreislauf der Traumatisierung durch Pumpe, Schlauchleitungen und besonders den Oxygenator ausgesetzt. Zapol et al. (75) haben nachgewiesen, daß α -1 Lipoproteine im Hundeserum an der Blut-Gas-Grenzfläche von Dispersionsoxygenatoren denaturiert werden und akkumulieren. Dobell et al. (7) machen Lipoproteinkomplexe bei extrakorporaler Oxygenation für Gefäßverschlüsse, Ischämie und Organversagen verantwortlich.

Diese Befunde wurden jedoch alle bei prolongierter extrakorporaler Oxygenation über 24 Stunden erhoben. Bei den im Human-Plasma prädominierenden β -Lipoproteinen sind solche Vorgänge noch nicht nachgewiesen worden. Es ist unwahrscheinlich, daß bei der kurzen Versuchsdauer in unserem Modell dieser Mechanismus eine gewichtige Rolle spielt. Nach Brown und Smith (1) sind scherende Kräfte

an der Grenzfläche der Bläschen im Gasdispersionsoxygenator für die Zerstörung von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten verantwortlich. Das für uns wichtige Kriterium der Anreicherung von Zellen im Organ läßt sich somit nur unter histologischer Kontrolle verfolgen.

In unserem Modell wurde der Perfusionsdruck von 50 cm Wassersäule durch die Schwerkraft der über dem Herzen stehenden Blutsäule erbracht. Der physiologisch diastolische Perfusionsdruck beträgt nahezu das Doppelte. Es ist jedoch anzunehmen, daß das leer schlagende Herz gegenüber dem arbeitenden Herzen einen wesentlich geringeren Perfusionsdruck benötigt. Unser mittleres Koronarstromvolumen liegt denn auch in allen autologen Kontrollen über 100 ml / 100 g HG und Minute, was dem Koronarstromvolumen des arbeitenden Herzen entspricht.

Diese Tatsache kann in unserem Modell außerdem auf den erniedrigten Hämatokrit durch Hämodilution und die damit reduzierte Blutviskosität zurückgeführt werden.

2. Das Perfusat

Hundeblut ist zwar reich an präformierten Antikörpern, reagiert jedoch erheblich empfindlicher auf die mechanische Belastung durch eine Herz-Lungen Maschine (55). Thrombozyten und Erythrozyten werden schnell zerstört. Dies könnte sich in unserem Modell besonders drastisch auswirken, da Kirby (23) nachgewiesen hat, daß Thrombozyten in Vitro besonders empfindlich auf Heparin reagieren. Mann nimmt an, daß dies auf eine direkte Wirkung des Heparins auf die Thrombozytenoberfläche zurückzuführen ist (40). Durch die Bluttraumatisierung im extrakorporalen Kreislauf werden vasoaktive Substanzen wie Adenosin und seine Derivate (19, 6) Serotonin und Histamin freigesetzt. Unter den pathophysiologischen Verhältnissen der HXAR werden solche Substanzen von verschiedenen Autoren für das Ansteigen des Strömungswiderstandes im transplantierten Organ verantwortlich gemacht (53, 15). Durch die starke Thrombozytenzerstörung in unserem Modell wäre eine negative Beeinflussung des Perfusionsverlaufs denkbar. Die HXAR würde dadurch in ihrem Verlauf eine künstliche Beschleunigung erfahren. Nachdem aber in den Ver-

suchen mit autogener und Menschenblutperfusion der Strömungswiderstand eher sinkt als steigt, kann diese mögliche Fehlerquelle bei der Beurteilung unseres Modells vernachlässigt werden.

3. Serologie

Unsere Titerbestimmungen ergaben keine komplementverbrauchenden zytotoxischen Antikörper gegen Schweineorgan-Antigen (Niere, Leber, Herz) im Menschenserum. Der Nachweis dieser Antikörper im Hundeblut wurde durch den Verbrauch austitrierten Meerschweinchenkomplements erbracht. Es wird jedoch diskutiert (28), daß diese Antikörper im Menschenserum zu ihrer Wirkung eventuell 2 Komplementquellen benötigen oder die Verbindung mit Meerschweinchenkomplement nicht eingehen.

Nachdem aber in der Kombination Schwein - Mensch - in der die entsprechenden Antikörper auf der Human-Seite nicht nachgewiesen wurden - in unserem Modell ein hyperakuter Abstoßungsvorgang innerhalb der gesetzten Frist nicht auftrat, liegt die Vermutung nahe, daß zytotoxische, komplementbindende Antikörper im Menschenserum gegen Schweineorganantigen tatsächlich nicht vorhanden sind.

B Ergebnisse

1. Der Mechanismus der HXAR, wie er sich heute in der Literatur darstellt:

Über den Ablauf der HXAR kommen Najarian und Foker (46) auf Grund ihrer Untersuchungen und einer Zusammenfassung der in der Literatur mitgeteilten Befunde zu folgendem Bild:

Im entfernt stammesverwandten Artsystem neigt man derzeit dazu, eine zum Zeitpunkt der Transplantation bereits bestehende humorale Antikörperpopulation anzunehmen. Diese Antikörper sind also prä-existent und ohne den bei der Allo-Transplantation ablaufenden Prozeß der Antigenerkennung und Proliferation knochenmarkabhängiger antikörperbildender Zellen im Empfängerblut vorhanden. Die Sofortabstoßung ist also Ausdruck einer vorhandenen Sensibilisierung des Empfängerindividuums gegen spenderspezifisches Organgewebe.

In der Initialphase der HXAR nimmt man nun eine Reaktion dieser Antikörper mit dem Gefäßendothel des Spenderorgans an. Es kommt zu einer Antigen-Antikörper Reaktion mit einer Komplexbildung, auf die eine bestimmte Thrombozytenpopulation und polymorphkernige Leukozyten mit Aggregation reagieren. Außerdem kommt es zur Aktivierung von Komplement. Durch die aggregationsbedingte Zerstörung von Leukozyten und Thrombozyten werden proteolytische Enzyme frei, die vermutlich den Gerinnungsmechanismus aktivieren. Fibrinniederschlag am Gefäßendothel führt zur vermehrten Ablagerung von Thrombozyten und Leukozyten, bis es zum Verschuß von Kapillaren und kleinen Arteriolen kommt.

Folge sind Extravasate und hämorrhagische Nekrose im betroffenen Gewebe (50).

Die charakteristischen Veränderungen eines hyperakut abgestoßenen Organs sind daher:

- 1 Massive Endothelläsion
- 2: Schnelle Abnahme der Durchblutung
- 3: Ödeme, Stauung und Hämorrhagie
- 4: Rasches Zusammenbrechen der Organfunktion.

Obwohl eine Bestätigung dieses pathophysiologischen Mechanismus in allen Einzelheiten noch aussteht, kommen andere Autoren zu einer

ähnlichen Vorstellung:

Kux et al. (25) sind der Ansicht, daß der rasche Verlust der Organfunktion durch den Zusammenbruch der Mikrozirkulation und nicht durch direkte Wirkung zellständiger Antikörper bedingt ist. Rosenberg (53) weist bereits 7 Minuten nach Perfusionsbeginn wandständige Thrombozytenaggregate am Endothel des hyperakut abgestoßenen Organs nach. Für ihr Entstehen macht er die AG - AK Komplexe in zweifacher Weise verantwortlich: Einmal durch eine direkte Wirkung der Komplexe auf das Endothel, zum anderen durch die Zerstörung einer bestimmten Thrombozytenpopulation. Dabei spielt wahrscheinlich die Freigabe vasoaktiver Substanzen eine verstärkende Rolle. Ebenso vermutet Williams (71), daß die Endothelzellen des Transplantats "Zielscheibe" der humoralen Antikörper sind.

Die AG - AK Komplexbildung zytotoxischer Antikörper geschieht unter Verbrauch von Komplement (5).

Nach Lukas (34) müssen die Antikörper in einer bestimmten komplexbindenden Formation auf der Antigenzelle angeordnet sein, bevor die Interactio des Komplements stattfinden kann. Dazu müssen die Antigen-Antikörper- und Komplement-Konzentration auf der betroffenen Zelle ein bestimmtes Minimum überschreiten.

Die relative Vorrangigkeit eines einzelnen oder einer Kombination dieser Abläufe für den schnellen Funktionsverlust hyperakut abgestoßener Organe muß erst geklärt werden.

2. Funktionsverlust, Durchblutung und Gewichtszunahme

6 Schweineherzen wurden mit Hundevollblut perfundiert. In allen 6 Fällen kam es nach 15 bis 95 Minuten zum Herzstillstand.

Die mit Menschenblut und autologem Blut perfundierten Schweineherzen hielten ihre Funktion über 120 Minuten aufrecht

Definitionsgemäß kann die HXAR mit einer Verzögerung bis zu 48 Stunden nach erfolgter Transplantation auftreten (54).

Eine In-Vitro Perfusion über diesen Zeitraum scheint jedoch mit den derzeit verfügbaren EKZ-Systemen nicht möglich. Der rasche Funktionsverlust bei den mit Hundeblood perfundierten Schweineherzen ist ein Hinweis für das Vorliegen der HXAR, während wir bei den mit Menschenblut perfundierten Herzen zumindest eine verzögerte Varian-

te der HXAR vorfinden. Der Anstieg des Strömungswiderstandes im transplantierten Organ gilt als das Zentralphänomen der HXAR (27). Die dafür verantwortlichen Faktoren wurden oben erwähnt: Gefäßendothelschwellung, Thrombozytenaggregationen und das Freiwerden vasoaktiver Substanzen. Bei Nierenxenotransplantaten wurden innerhalb von Minuten ein Abfall auf 1% der Organdurchblutung und eine 50 fache Vergrößerung des Strömungswiderstandes gefunden (54). In unserer schnell reagierenden Spezieskombination sank die Organdurchblutung ebenfalls innerhalb von Minuten im Durchschnitt auf 50% des Vorperfusionswertes, um dann über die gesamte Versuchsdauer noch weiter bis auf 37% abzufallen.

Die Restperfusion bei vorliegender HXAR könnte auf die Eröffnung epikardialer Kurzschlüsse und fast vollständiger Umgehung des Kapillarbereiches zurückzuführen sein.

Um so unerwarteter ist daher das Verhalten der Organdurchblutung in den Versuchen, in denen mit Menschenblut perfundiert wurde. In diesen Versuchen wurde teilweise sogar ein Ansteigen dieses Parameters gefunden. Diese Beobachtung könnte ebenfalls durch eine zunehmende Öffnung arteriovenöser shunts besonders im epikardialen Bereich und eine dadurch hervorgerufene Umverteilung der regionalen Myokarddurchblutung erklärt werden. Ein solcher Mechanismus wurde bei der autologen Perfusion isolierter Hundeherzen beobachtet, wobei man die Hypoxie während der Transplantation für die auslösende Ursache hält (13).

Neben der Organdurchblutung zeigten die Gewichtszunahmen signifikante Unterschiede in den einzelnen Gruppen.

In der Literatur liegen bisher nur Ergebnisse aus Nierenversuchen vor (31, 35, 54). Von Hundeblut in Vitro perfundierte Schweinenieren nahmen dabei um 25 - 35% ihres Ausgangsgewichtes zu (35). Es ist jedoch erwiesen, daß Organe in isolierter Perfusion auch in autologen Kontrollen an Gewicht zunehmen (9, 49), was auch in unseren Kontrollgruppen der Fall war.

Für dieses Phänomen können der durch Hämodilution des Perfusats verminderte kolloidosmotische Druck, die Organischämie während des Transfers auf das Perfusionsmodell, sowie die vielfältigen Wirkungen der EKZ selbst verantwortlich gemacht werden. Betrachtet

man die durchschnittliche Gewichtszunahme von 18% bei den Herzen in der Kombination Schwein - Hund, so verbleiben nach Abzug (wenn man eine einfache Summation zweier gleichgerichteter Prozesse voraussetzt) der Gewichtszunahme von 8% der autologen Kontrollen noch 10%, die durch die HXAR bedingt sein dürften. Überraschend ist hier wieder das Verhalten der Herzgewichte in den Versuchen, in denen mit Menschenblut perfundiert wurde. Die hierbei verzeichnete Gewichtszunahme unterscheidet sich nicht von der der Kontrollversuche. Die direkte Abhängigkeit der beiden Parameter Organdurchblutung und Gewichtsveränderung voneinander ist offensichtlich, was im Einklang mit den diskutierten Mechanismen der HXAR steht.

3. Histologie und Blutmorphologie

Die pathohistologischen Merkmale des hyperakut abgestoßenen Gewebes sind Endothelläsionen an den Kapillaren, Arteriolen und Venolen, Aggregate von Thrombozyten und polymorphkernigen Leukozyten sowie extravasale Hämorrhagien (50, 51, 53).

Diese Befunde, am Modell der hyperakut abgestoßenen Niere erhoben, sind auch in unseren abgestoßenen Herzen vorhanden. Wichtigste Zeichen sind dabei pyknotisch veränderte Kerne der Endothelzellen, die vermutlich direkt durch die entstandenen AG - AK Komplexe angegriffen werden. Solche Endothelläsionen fanden wir bei allen abgestoßenen Herzen der Gruppen D und E. Ebenso lagen in all diesen Fällen Thrombozytenaggregate vor. Auf ihre Bedeutung ist in der Literatur häufig hingewiesen (4, 33, 35).

Einen Zusammenhang zwischen AG - AK Komplex Bildung und der Thrombozytenaggregation machen Movat et al. (41) in einem in Vitro Experiment deutlich: Dabei zeigt sich, daß die Bildung von Thrombozytenaggregaten durch Freisetzung von Adenosindiphosphat während der leukozytären Phagozytose der AG - AK Komplexe induziert wird. Die Eliminierung von Thrombozyten und Leukozyten aus dem Perfusat ist die Folge. Bei verschiedenen Autoren liegen A - V Differenzen dieser Zelltypen bei Nieren Xenotransplantaten im System Schwein - Hund vor. Für Thrombozyten werden im Verlauf der HXAR von Giles (11) und Kux (25) 60 - 90%, für Leukozyten 70 - 80%

"Trapping" angegeben. Die Beurteilung dieser Vorgänge ist durch die unspezifischen Einflüsse des Perfusionssystems erschwert (s.o.). Die überraschend hohen Kontrollwerte müssen darauf zurückgeführt werden. Dennoch können wir aus unseren Beobachtungen auf ein aktives Trapping in den xenoperfundierten Organen schließen: Durch die verschiedenen Perfusatmengen veränderten wir die verfügbare Menge absorbierbarer Antikörper im Perfusionssystem. Wenn man davon ausgeht, daß damit auch das Ausmaß der AG - AK Reaktion im xenoperfundierten Organ zunimmt, so kann man auch ein vermehrtes Trapping der Blutbestandteile erwarten.

Bei Betrachtung der Abbildung 5 wird deutlich, daß in den Gruppen mit einer Xenoperfusatmenge zwischen 300 und 400 ml die Zahl der verschwundenen Leukozyten schneller und höher steigt als in den Vergleichsgruppen.

Signifikant ist der Unterschied in der Gruppe E, wo bei kürzester Versuchsdauer die größte Menge Leukozyten aus dem Perfusat eliminiert wird.

Dieser Befund stimmt sowohl mit dem erhaltenen histologischen Resultat, als auch mit der Heftigkeit der beobachteten Abstoßungsreaktion überein.

4. Präformierte Antikörper und HXAR

6 Schweineherzen wurden In Vitro mit Menschenblut xenoperfundiert. In keinem Fall kam es innerhalb der gesetzten 120-Minuten Frist zu einer Abstoßung.

Das Ausbleiben aller Abstoßungsphänomene in diesen Versuchen läßt uns zumindest von einem verzögerten Beginn der HXAR sprechen. Die Ursache für diese Verzögerung sehen wir in der Tatsache, daß im Menschen- und Hundeblood verschiedene Antikörper gegen Schweineantigen gefunden wurden.

Unsere Untersuchungen ergaben keine komplementverbrauchenden Antikörper im Menschenblut, dagegen wurden im Hundeblood auch von anderen Arbeitsgruppen (3, 53) hohe Titer komplementverbrauchender Antikörper nachgewiesen. Wir konnten Titer von 1:64 bis 1:128 feststellen.

M.F. Mozes et al. (42) kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, daß komplementverbrauchende zytotoxische Prozesse in der Initialphase der HXAR eine bedeutende Rolle spielen. In zahlreichen Arbeiten wurde auf die Komplementspeicherung in xenogen perfundierten Nieren hingewiesen (3, 4, 5, 10, 39, 50, 61). Wird das gesamte Komplementsystem durch einen Faktor aus Kobragift gelähmt (47, 61) oder nur ein einzelner Faktor durch den "shark inaktivator" (22) inhibiert, so können signifikante Verzögerungen im Verlauf der HXAR erreicht werden. Daß bei der schnellen Abstoßung der In Vitro perfundierten Herzen im System Schwein - Hund Komplement beteiligt war, ist durch die immunhistologischen Befunde gesichert. Dabei wurde in den Serien mit Hundeblutperfusion im Bereich der Kapillarendothelien durch Immunfluoreszenz Komplement nachgewiesen. Die entsprechenden Immunglobuline - Human- bzw. Hunde IgG - wurden ebenfalls im Bereich der Kapillarendothelien dargestellt. Der Nachweis für Human-Komplement konnte dabei nicht erbracht werden.

Es ist somit denkbar, daß die nur im Hundeblut von uns nachgewiesenen komplementverbrauchenden zytotoxischen Antikörper gegen Schweineherzantigen die entscheidende Rolle bei der hyperakuten Abstoßung der xenoperfundierten Schweineherzen gespielt haben.

V Zusammenfassung

- 1: 12 Schweineherzen wurden mit Human- bzw. Hundevollblut in einem Herz-Oxygenator-Präparat bis zu 120 Minuten xenoperfundiert. Den isolierten Schweineherzen wurden durch Perfusatvolumina von 80 - 100 bzw. 300 - 400 ml verschieden große Antikörpermengen angeboten.
- 2: Hämagglutinierende Antikörper gegen Schweineerythrozyten wurden im Humanblut in einem Titer von 32 - 64, im Hundeblood von 64 - 128 nachgewiesen. Komplementbindende zytotoxische Antikörper gegen Schweineherzgewebe wurden im Humanblut von uns nicht gefunden, im Hundeblood betrug dagegen ihr Titer 64 - 128.
- 3: Bei den mit Hundeblood perfundierten Schweineherzen kam es in den Versuchen mit 300 bis 400 ml Perfusionsvolumen nach 15, 25 und 45 Minuten zum Funktionsverlust (Ende der elektrischen Herzfähigkeit) und zu einer Abstoßung der Herzen im Sinne der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion (HXAR). Bei den Versuchen mit einem Perfusionsvolumen zwischen 80 und 100 ml kam es in 2 Fällen nach 90, in einem Fall nach 95 Minuten zur Abstoßung. In den Gruppen mit Humanblutperfusion zeigten sich im Vergleich mit den autologen Kontrollen im Beobachtungszeitraum von 120 Minuten keine signifikanten Unterschiede in Funktion und Organdurchblutung.
- 4: Dagegen nahm bei den mit Hundeblood perfundierten Schweineherzen die Organdurchblutung deutlich ab und die Herzgewichte lagen nach Versuchsende signifikant höher als bei den autologen Kontrollen und nach Xenoperfusion mit Humanblut. Nach Perfusion mit Hundeblood konnten wir eine direkte Abhängigkeit der Durchblutungsabnahme von der Ödembildung feststellen.
- 5: In den histologischen Untersuchungen der Gruppen mit Hundebloodperfusion wurden Komplementfixation an den Endothelzellen, Kapillarläsion sowie intravasale Leuko- und Thrombozytenaggregation nachgewiesen.
- 6: Da nur im Hundeblood komplementverbrauchende zytotoxische Antikörper gegen Schweineorganhomogenat nachgewiesen werden konnten

ten, besteht Grund zu der Annahme, daß diese Antikörper für die Initialphase der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion verantwortlich sind, die in der Spezieskombination Schwein - Mensch ausblieb.

VI Literaturverzeichnis

- 1 Brown, I. Jr. and W. W. Smith:
Hematologic problems associated with the use of extracorporeal circulation for cardiovascular surgery.
Ann. Int. Med. 49, 1035 (1958)
- 1a ACS/NiH Organ Transplant Registry
New letter 12, (1974)
- 2 Carell, A.:
Doppelte Nephrektomie und Reimplantation einer Niere.
Langenbecks Arch. klin. Chir. 88, 379 (1909)
- 3 Clark, D.S., Gewurz, H., Varco, R.L.:
Mechanisms in immediate xenogenic graft rejection.
Fed. Proc 25, 296 (1966)
- 4 Clark, D.S., Gewurz, H., Varco, R.L.:
Serologic studies on accelerated graft rejection
Fed. Proc. 25, 296 (1966)
- 5 Clark, D.S., Gewurz, H., Varco, R.L., Good, R.A.:
Complement fixation during heterograft rejection.
Surg. forum 15, 144 (1966)
- 6 De Wall, R.A., Long, D.M., Gemill, S.H., Lillehei, C.W.:
Certain blood changes in patients under extracorporeal circulation.
J.thorac. Surg. 37, 325 (1959)
- 7 Dobell, A.R.C., Metri, M., Galva, R., Sarkozy, E., Murphy, D.R.:
Biologic evaluation of blood after prolonged recirculation through film and membrane oxygenators.
Ann. Surg. 161, 617 (1965)

- 8 Dubost, C., Oeconomos, J., Vaysse, J., Hamburger, P.,
Milliez, J., Lebrigand, A.:
Note préliminaire sur l'étude des fonctions rénales de reins
greffés chez L'homme.
Bull. Soc. med. Hop. Paris 67, 105 (1951)

- 9 Enerson, D. M.:
Cellular swelling: I. Hypothermia, hypoxia and the osmotic
effects of low molecular weight dextran on isolated tissue.
Am. Surg. 163, 169 (1966)

- 10 Gewurz, H., Finstadt, J., Muschel, H., Good, R. A.:
Phylogeny, Florida Press, Gainsville, Florida. 12, 153 (1966)

- 11 Giles, G. R., Boehmig, H. J., Lilly, J., Ameniya, H.,
Takagi, H., Starzl, T. E.:
Mechanism and modification of rejection of heterografts bet-
ween divergent species.
Transpl. Proceedings, 2, 166 (1970)

- 12 Goodwin, W. E., Kaufmann, J. J., Mims, M. M., Turner, R. D.,
Glasscock, R., Maxwell, M.:
Human renal transplantation. Clinical experiences with 6 cases
of renal homotransplantation.
J. Urol. 89, 13 (1963)

- 13 Hagl, S.: Pers. Mitteilung

- 14 Hamburger, J., Vaysse, J., Crosnier, J., Tubiana, M.,
Lalanne, C. M., Antoine, B., Auvert, J., Soulier, J. P., Dor-
mont, J., Salmon, C., Maisonnnet, M., Amiel, L. J.:
Transplantation d'un rein entre jumeaux non monozygotes après
irradiation du receveur. Bon fonctionnement au quatrième mois.
Presse méd. 67, 1771 (1959)

- 15 Hammer, C., Fiedler, L., Kloeve Korn, W.P., Land, W., Messmer, K., Brendel, W.:
Mitigation of the hyperacute rejection of kidneys in widely divergent species.
Europ. Surg. Res. 2, 112 (1970)
- 15a Hammer, C.: Pers. Mitteilung
- 16 Hardy, J.D., Webb, W.R., Dalton, M.L., Walker, G. R.:
Lung homotransplantation in man. Report of the initial case.
J. Amer. med. Ass. 186, 1065 (1963)
- 17 Hardy, J.D., Chavez, F.D., Kurrus, F.M., Neely, W.A., Eraslan, S., Turner, M.D., Fabian, L.W., Labecki, T.D.:
Heart transplantation in man. Development, studies and report of a case.
J. Amer. med. Ass. 188, 1132 (1964)
- 18 Hitchcock, C.R., Kiser, U.C., Telander, R.L., Seljeskog, E.L.:
Baboon renal grafts.
J. Amer. med. Ass. 189, 934 (1964)
- 19 Hollenberg, M., Pruett, R., Thal, A.:
Vasoactive substances liberated by prolonged bubble oxygenation.
J. Thor. Cardio. Surg. 45, 402 (1963)
- 20 Hume, D.M., Merrill, B.F., Miller, B.F.:
Homologous transplantation of human kidneys.
J. clin. Invest. 31, 640 (1952)
- 21 Hume, D.M., Magee, J.H., Kättmann, H.M., Rittenbury, M.S., Prout, G.R.:
Renal homotransplantation in man in modified recipients.
Ann. Surg. 158, 608 (1963)
- 22 Jensen, J.A., Portal, P., Snyder, G.B.:
A specific inactivator of mammalian C 4 isolated from nurse shark serum.
J. exp. Med. 130, 217 (1966)

- 23 Kirby, C.K., Aeppli, D.L.:
Discussions on blood changes in extracorporeal circulation.
J.G. Allen, Springfield, 3, 264 (1958)
- 24 Küss, R.J., Teinturier, J., Milliez, P.:
Quelques essais de greffe de rein chez l'homme.
Mem. Acad. Chir. 77, 775 (1951)
- 25 Kux, M., Boehmig, H.J., Amemiya, H., Torisu, M., Yohoyama, T., Laumois, B., Popovtzer, M., Wilson, C.B., Dixon, F.J., Starzl, T.E.:
Modification of hyperacute canine renal homograft and pig to dog heterograft rejection by the intraarterial infusion of citrate.
Surg. 1, 103 (1970)
- 26 Land, W., Mandler, N., Liebe von, S., Pielsticker, K., Messmer, K.:
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speziessystemen. I. In Vitro Hämoperfusion isolierter Nieren als Modell zur Untersuchung von Abstoßungsmechanismen xenogener Organtransplantate.
Klin. Wschr. 49, 164 (1971)
- 27 Land, W. :
Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organtransplantation.
Der Chirurg, 42, 172 (1971)
- 28 Land, W.: Pers. Mitteilung
- 29 Landsteiner, O., Hume, D.M.:
Experimental and clinical homotransplantation of kidney.
Peer's Transplantation of tissues. 2, 484, (1959)
- 30 Largiadèr, F.: Organtransplantation.
Ed. 2, 303 (1970)
- 31 Linn, B.S., Jensen, J.A., Portal, P., Snyder, G.B.:
Renal Xenograft prolongation by suppression of natural antibody.
Surg. Research 8, 5 (1968)

- 32 Loeb, L.:
The grafting of tissues into early related individuals in the rat and the mode of inheritance of individuality-differentials.
J. med. Res. 38, 353 (1918)

- 33 Lowenhaupt, R., Nathan, P.:
Early accumulation of platelets in allotransplants of the dog kidney observed by electron microscopy.
J. Cell. Biol. 35, 83 (1967)

- 34 Lucas, Z.J., Coplon, N., Kempson, R., Cohn, R.:
Early renal transplant failure associated with subliminal sensitization.
Transplantation, 10, 522 (1970)

- 35 Marceau, P.J., Hallenbeck, G.A., Zollmann, P.E., Butler, H.C., Shorter, R.G.:
A comparison of autoplasmic allogenic and xenogenic perfusion of isolated kidneys.
JSR 5, 11 (1965)

- 36 Medawar, P.B.:
The behavior and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits.
J. Anat. 78, 176 (1944)

- 37 Merrill, H.P., Murray, J.E., Harrison, J.H., Guild, W.R.:
Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins.
J. amer. med. Ass. 160, 277 (1956)

- 38 Merrill, J.P., Murray, J.E., Harrison, J.H., Friedmann, E.A., Dealy, J.B., Dammin, G.J.:
Successful homotransplantation of the kidney between non identical twins.
New. Engl. J. Med. 262, 1251 (1960)

- 39 Messmer, K., Hammer, C., Land, W., Fiedler, L., Klövekorn, W.P., Holper, K., Lob, G., Merzel, D., Brendel, W.:
Modification of hyperacute xenogenic kidney rejection.
Transpl. Proc. 1, 542 (1971)
- 40 Mocchi, M., Cascone, A.:
Sulla diversa azione dell'eparina a piccole et alte dosi sull'
agglutinabilità piastrinica.
Haematologica (Pavia), 43, 397 (1958)
- 41 Movat, H.Z., Mustard, J.F., Taichman, N.S., Urinharat, T.:
Platelet aggregation and release of ADP, serotonin and
histamin associated with phagocytosis of antigen-antibody com-
plexes.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 120, 232 (1956)
- 42 Mozes, M.F., Gewurz, H., Gunarson, A., Moberg, A.W., West-
berg, N.G., Jetzer, T., Najarian, J.S.:
Xenograft rejection by dog and man: Isolated kidney perfusion
with blood and plasma.
Transpl. Proc. 1, 531 (1971)
- 43 Murray, J., Holden, R.:
Transplantation of kidneys, experimentelly and in human cases.
Amer. J. Surg. 87, 508 (1954)
- 44 Murray, J.E., Merrill, J.P., Dammin, G.L., Dealy, J.B.,
Walter, C.W., Brooke, M.S., Wilson, R.E.:
Study an transplantation immunity after total body irradiation:
Clinical and experimental investigation.
Surgery 48, 272 (1960)
- 45 Murray, J.E., Gleason, R., Bartholomay, A.:
Fourth report on the human kidney transplant registriy:
16 September 1964 to 15 March 1965.
Transplantation 3, 684 (1965)
- 46 Najarian, J.S., Foker, J.E.:
Mechanisms of kidney allograft rejection.
Transplantation Proc. 1, 76 (1969)

- 47 Nelson, R.A.:
A new concept of immunosuppression on the hypersensitivity reaction and in transplantation immunity.
Surv. Ophthal. 11, 498 (1966)
- 48 Neuhoﬀ, H.:
The transplantation of tissues.
Appleton, New York / London 1923
- 49 Nizet, A., Cypers, Y., Deetjen, P., Kramer, K.:
Functional capacity of the isolated perfused kidney.
Pflügers Archiv 269, 179 (1967)
- 50 Perper, R.J., Najarian, J.S.:
Experimental renal heterotransplantation. I. In widely divergent species.
Transplantation 4, 377 (1966)
- 51 Pielsticker, K., Schilling, A., Aldenhoff, J., Land, W.:
Untersuchungen zur perakuten Abstoßung xenotransplantierter Nieren.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 645 (1971)
- 52 Reemtsma, K., Carcken, B.H., Schlegel, J.U., Pearl, M.:
Heterotransplantation of the kidney: Two clinical experiences.
Science 143, 700 (1964)
- 53 Rosenberg, J.C., Broersma, R.J., Bullemer, G., Mammen, E.F., Lenaghan, R., Rosenberg, B.F.:
Relationship of platelets, blood coagulation and fibrinolysis to hyperacute rejection of renal xenografts.
Transplantation 2, 152 (1969)
- 54 Rosenberg, J.C., Haxkins, E., Rector, F.:
Mechanisms of immunological injury during antibody - mediated hyperacute rejection of renal heterografts.
Transplantation 2, 151 (1971)

- 55 Schermer, S.:
Die Blutmorphologie der Laboriumstiere.
Leipzig, Johann Ambrosius Barth, 3, 42 (1958)
- 56 Schöne, G.:
Vergleichende Untersuchungen über die Transplantation von
Geschwülsten und von normalen Geweben.
Brun's Beitr. klin. Chir. 61, 1 (1908)
- 57 Schönstadt, B., Morel, L., Papin, E.:
Les applications physiologiques et chirurgicales des trans-
plantations rénales.
Biol. Med. 11, 397 (1963)
- 58 Servalles, P., Soulié, J., Rougeulle, G., Delahaye, N., Tuche, A.:
Grefe d'un rein de supplicie à une malade avec rein unique
congenital, atteinte de néphrite chronique hypertensive
azotémique.
Bull. Soc. méd Hop. Paris 67, 99 (1951)
- 59 Shacman, R., Dempster, W.J., Wrong, O.M.:
Kidney homotransplantation in the human.
Brit. J. Urol. 35, 222 (1963)
- 60 Simonsen, M., Bueman, J., Gammeltoft, A., Jensen, F.,
Jørgesen, K.:
Biological incompatibility in kidney transplanted dogs. I. Ex-
perimental and morphological investigations.
Acta. path. microbiol. scand. 32, 1 (1953)
- 61 Snyder, G.B., Ballesteros, E., Zarko, R.M., Linn, B.S.:
Prolongation of renal xenografts by complement suppression.
Surg.Forum, 17, 478 (1966)
- 62 Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Waddell, W.R.:
The reversal of rejection in human renal homografts with
subsequent development of homograft tolerance.
Surg. Gynec. Obstet. 117, 385 (1963)

- 63 Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Kaulla von K.N., Herrmann, G., Brittain, R.S., Waddell, W.R.:
Homotransplantation of the liver in humans.
Surg. Gynec.Obstet. 117, 659 (1963)
- 64 Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Rowlands, D.T., Kirkpatrick, C.H., Wilson, W.E.E., Rifkind, D., Wadell, W.R.:
Immunosuppression after experimental and clinical homotransplantation of the liver.
Ann. Surg. 160, 411 (1964)
- 65 Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Peters, G.N., Kirkpatrick, C. H., Hitchcock, C.R., Waddell, W.R., Herrmann, T.J., Faris, T.D., Porter, K.A.:
Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases.
Transplantation 2, 752 (1964)
- 66 Terasaki, P.I.:
Serotyping for homotransplantation.
V. Evaluation of a matching scheme.
Transplantation 4, 688 (1966)
- 67 Traeger, J.D., Fries, D., Perrin, J., Saubier, E., Cuhe, M., Laurent, G., Vicaria, E.:
Heterotransplantation chez l'homme, premiers résultats.
Prec. Europ. Dialysis Transplant Ass.
Excerpta Medica, Amsterdam 2, 214 (1966)
- 68 Underwood, H.L.:
Anaphylaxis following skin-grafting for burns.
J. Amer. med. Ass. 63, 775 (1914)
- 69 Unger, E.:
Nierentransplantationen.
Berl. klin. Wschr. 47, 573 (1910)

- 70 Voronoy, V.:
Sobre el bloqueo del aparato reticuloendotelial del hombre
an algunas formas de intoxicacion por el sullimado y sobre
la transplatation del rinon cadaverico como methodo del
tratamiento de la anuria consecutivael aquella intoxicacion.
Siglo med. 97, 296 (1936)
- 71 Williams, G.M., de Planque, B., Lower, R., Hume, D.:
Antibodies and human transplant rejection.
Annals of Surgery, 10, 603 (1969)
- 72 Williamson, C.S.:
Some observations on the length of survival and function of
homogenous kidney transplants.
J. Urol. 10, 275 (1923)
- 73 Woodruff, M.F.A.:
The transplantation of tissues and organs.
Thomas, Springfield 6, 549 (1960)
- 74 Woodruff, M.F.A., Anderson, N.F.
The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and
administrations of antilymphocytic serum on the survival of
skin homografts in rats.
Ann. N.Y. Acad.Sci. 120, 119 (1964)
- 75 Zapol, M.W., Levy, R.I., Kolobow, T., Spragg, P., Bowman,
R.L.:
In vitro denaturation of plasma -lipoproteins by bubble
oxygenation in the dog.
Current Topics in Surgical Research 1, 449 (1969)

VII Lebenslauf:

- 2.1.45 Geboren in Tegernsee als Sohn des Kaufmanns Otto Kurrer und seiner Ehefrau Eleonore Kurrer, geborene Wolff.
- 1951 Schuleintritt in die Volksschule Hochstadt, Obb.
- 1966 Reifeprüfung am humanistischen Theresiengymnasium München und Beginn des Medizinstudiums an der Universität München.
- 1968 Ärztliche Vorprüfung.
- 1969 Beginn der Mitarbeit im tierexperimentellen Labor der herzchirurgischen Abteilung an der chirurgischen Klinik der Universität München.
- 1972 Ärztliche Prüfung.
- 1973 Approbation als Arzt. Seither Assistent am pathologischen Institut des städtischen Krankenhauses München-Harlaching.

Herrn Prof. Dr. W. Klinner danke ich dafür, daß ich diese Arbeit an seiner Abteilung durchführen konnte.

Herrn Prof. Dr. F. Sebening gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und seine stete Unterstützung.

Für die Einführung in das experimentelle Arbeiten und für manche Hilfestellung im Verlauf der Versuche bedanke ich mich bei Herrn Dr. N. Mendler und Herrn Dr. S. Hagl.

Herrn Dr. K. Pielsticker danke ich für die Anfertigung der histologischen Präparate und ihre Auswertung.

Für technische Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft danke ich Frl. C. Schülgen, Frl. G. Brons und Fr. G. Eicher.

